

氏 名	水 野 憲
生 年 月 日	
本 籍	東京都
学 位 の 種 類	博士（薬学）
学 位 記 番 号	博乙第 261 号
学位授与の日付	2003 年 3 月 25 日
学位授与の要件	論文博士（学位規則第 4 条第 2 項）
学位授与の題目	新規緑内障治療薬ニプラジロールに関する研究
論文審査委員(主査)	鈴木 永雄（研究科・教授）
論文審査委員(副査)	宮本 謙一（医学部附属病院・教授）
	横井 毅（医学系研究科・教授） 米田 幸雄（研究科・教授）
	山田 清文（薬学部・教授）

学 位 論 文 要 旨

Glaucoma is a disease primarily caused by damage in the optic nerve head (ONH). The most serious risk factor in glaucoma is increase of intraocular pressure (IOP); however, several reports and epidemiological studies suggest the direct toxicity of glutamate against the retina as well as the dysfunction of the systemic and/or local circulation would also be involved in the development of glaucomatous damage. Nipradilol decreased IOP by suppressing aqueous formation and increasing aqueous outflow in normal rabbits. Nipradilol prevented the *N*-methyl-D-aspartate-induced retinal damage in rats. Topical application of nipradilol increased the human ONH blood flow in the ipsilateral eye only independently of decreasing the IOP. Ocular penetration study showed that nipradilol reached the posterior periocular tissues and posterior retina-choroid with pharmacologically effective concentration. These results suggest that topical application of nipradilol has potential to prevent glaucomatous damage by not only decreasing IOP at the anterior part of eye but also increasing the ONH blood flow and protecting the optic nerve at the posterior part of eye.

緑内障は日本において糖尿病網膜症に次ぎ失明原因の第二位に位置し、視野狭窄が緩徐に進行する自覚症状に乏しい疾患である^[1]。病理学的には視神経篩斑部における神経線維束の障害に起因する視神経乳頭陥凹の拡大と網膜における神経

節細胞の減少および神経線維層の菲薄化を呈する^[1,2]。

緑内障の疾患概念すなわち定義はこれまでの“高眼圧＝緑内障”から“緑内障は特徴的な視神経乳頭、網膜神経線維層変化(神経節細胞の減少と線維層の菲薄化)とこれに対応する視機能障害(視野狭窄)を呈する疾患”へと変遷した。現在では、眼圧は視神経障害が生ずる上で重要な危険因子であるが、眼圧(mechanical theory)^[3-5]以外の病因として、視神経の脆弱度ないしは高濃度グルタミン酸などの視神経に対する直接的な障害(excitotoxin theory)^[6-8]、血管攣縮や血流障害を含む循環障害(vascular theory)^[9,10]などの諸因子が独立あるいは協同して視神経障害の成立、進行に関与していると考えられている^[11]。

ニプラジロール(3,4-dihydro-8-(2-hydroxy-3-isopropylamino)-propoxy-3-nitroxy-2H-1-benzopyran, C₁₅H₂₂N₂O₆, M.W. = 326.35)は非選択的 β 遮断作用と α₁ 選択的遮断作用とともに NO 供与作用を有する^[12,13]新規緑内障治療薬である。今回我々はニプラジロールにおいて、緑内障治療薬に必須である眼圧下降作用とその機序、神経保護作用、そして眼循環改善および点眼による後眼部治療の可能性として血流増加作用と眼内分布を検討した。

以下に記載する動物実験はすべて ARVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic Research に従い実施した。ヒト血流試験はヘルシンキ宣言に従い東京大学医学部倫理委員会の承認を受け実施した。

眼圧下降作用

ニプラジロールは白色家兎の眼局所において交感神経 β 受容体および α 受容体遮断作用を示した。ニプラジロールの白色家兎眼における β 遮断作用の強度は同じ β 遮断薬であるチモロールの約 1/2 であったが、臨床用量である 0.25%ニプラジロールの眼圧下降作用は 0.5%チモロールよりも有意に大きかった。ニプラジロールは白色家兎において房水産生を抑制するとともにぶどう膜強膜流量および房水流出率を増加させた(表 1)。以上よりニプラジロールは眼局所において α および β 遮断作用を有し、房水産生抑制および流出促進作用により眼圧を下降させることが

明らかとなった。

表 1 0.25%ニブラジロールの家兎房水動態に対する作用

	前値ないしは非点眼側	後値ないしは点眼側
房水産生量 ($\mu\text{L}/\text{min}$)	1.51 ± 0.16	$1.94 \pm 0.16^{**}$
ぶどう膜強膜流量 ($\mu\text{L}/\text{min}$)	0.164 ± 0.011	$0.216 \pm 0.018^{**}$
房水流出率 ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mmHg}$)	0.152 ± 0.005	$0.174 \pm 0.006^{*}$

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 前値ないしは非点眼側 (対応のある t 検定). $n = 6 \sim 8$.

神経保護作用

ラット NMDA 硝子体内投与網膜障害モデルにおけるニブラジロールの神経保護作用をチモロール、 α_1 選択的遮断薬ブナゾシンおよび NO ドナーであるニトロプルシドナトリウムと比較検討した。NMDA 硝子体内投与により網膜神経節細胞数および内網状層厚がそれぞれ $50.4 \pm 2.6\%$ 及び $47.8 \pm 4.9\%$ まで減少した。ニブラジロールと NMDA の同時投与により神経節細胞数および内網状層厚の減少はどちらも有意に抑制された (図 1)。チモロールおよびブナゾシンでは NMDA 網膜障害抑制作用が認められなかったのに対し、ニトロプルシドナトリウムでは NMDA による神経節細胞数および内網状層厚の減少が有意に抑制された。

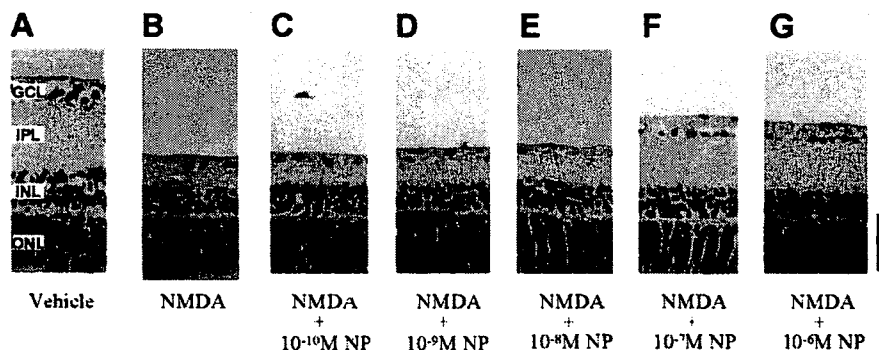


図 1 ラット NMDA 硝子体内投与網膜障害とニブラジロールによる保護作用の典型的な網膜写真。GCL:神経節細胞層, IPL:内網状層, INL:内顆粒層, ONL:外顆粒層。Vehicle:0.1M リン酸緩衝液, NMDA: 4×10^{-2} M NMDA, NP:ニブラジロール。Scale bar, 50 μm .

加えてニブラジロール点眼により白色家兎硝子体内エンドセリン-1 投与による網膜動脈収縮が有意に抑制された。以上よりニブラジロールはラット NMDA 網膜障害モデルにおいて神経保護作用を有し、機序としてニブラジロールの有する NO 供与作用の関与が考えられた。加えてニブラジロールは点眼投与により後眼部の網膜内境

界膜まで到達し薬理作用を示すことが明らかとなった。

血流増加作用

ニブラジロール点眼液のヒト視神経乳頭部血流量に対する作用を検討するため、健常成人 8 名の片眼に 0.25%ニブラジロールを 1 日 2 回 7 日間点眼し、点眼前後の循環動態および視神経乳頭部血流量を測定した。ニブラジロール点眼により、点眼側においてのみ視神経乳頭部血流量の増加が認められた(図 2)。

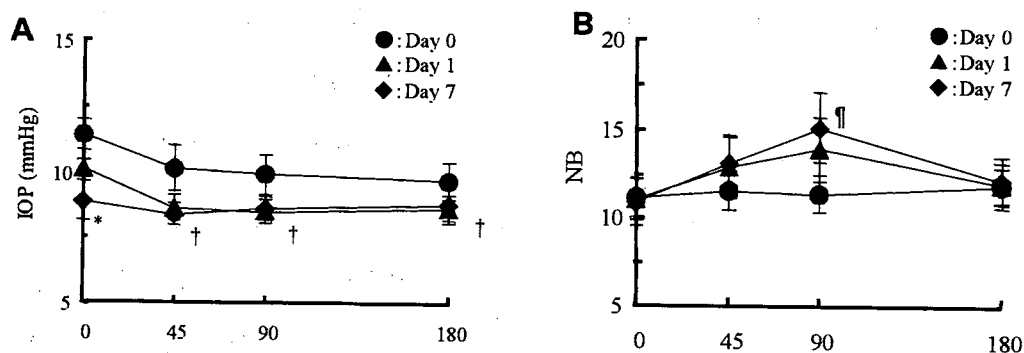


図 2 ニブラジロール点眼の眼圧(A)および視神経乳頭部血流量(B)に対する作用. A:ニブラジロール点眼側 Day 0~7 の眼圧. B:ニブラジロール点眼側 Day 0~7 の NB_{ONH}. * $p < 0.05$ vs. Day 0 (paired t -test with Bonferroni). † $p < 0.01$ vs. Day 1 の 0 分(Dunnett).

ニブラジロール点眼後の眼球内外における分布および濃度を検討するため、 $[^{14}\text{C}]$ ニブラジロールの 1%点眼液をサルに片眼に単回点眼し、点眼 1 時間後に頭部オートラジオグラムを作製した(図 3)。

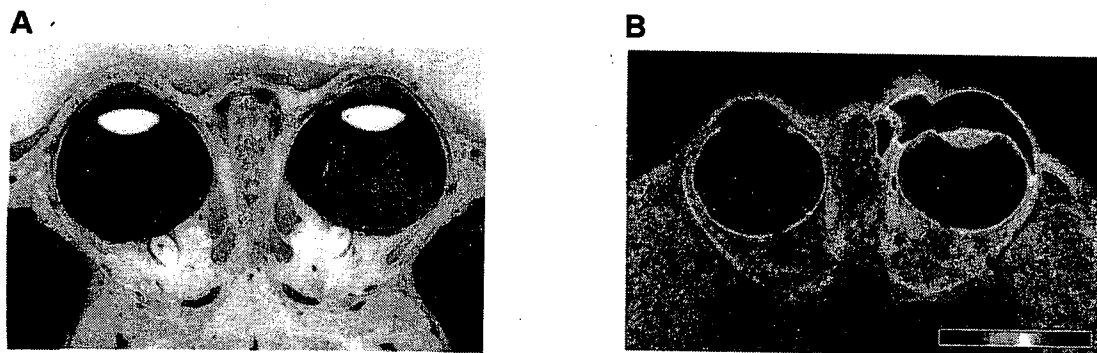


図 3 サル頭部の水晶体中央部と視神経を通る切片 (A).および切片 A に対応する $[^{14}\text{C}]$ ニブラジロール点眼 60 分後のオートラジオグラム (B). 右側が $[^{14}\text{C}]$ ニブラジロール点眼側. 倍率 $\times 0.95$.

点眼側における視神経周囲組織中ニブラジロール濃度は非点眼側の同部位より

も有意に高濃度であった。点眼側赤道部周囲組織中ニブラジロール濃度は点眼側視神経周囲組織よりも有意に高濃度であったが、非点眼側の両部位間には差が認められなかった。点眼側後眼部網・脈絡膜中ニブラジロール濃度は非点眼側の同部位よりも有意に高濃度であった(表 2)。

表 2 サルにおける1% ^{14}C ニブラジロール100 μL 点眼1時間後の組織内濃度

	点眼側	非点眼側
前房	63.0 \pm 14.0*	0.10 \pm 0.04
水晶体	2.18 \pm 0.59*	0.07 \pm 0.02
硝子体	N.D.	N.D.
赤道部網・脈絡膜	5.07 \pm 1.33*	0.65 \pm 0.06 [#]
後眼部網・脈絡膜	1.95 \pm 0.28**	1.60 \pm 0.28
赤道部周囲組織	0.71 \pm 0.09** ^{††}	0.13 \pm 0.03
視神経周囲組織	0.43 \pm 0.08*	0.13 \pm 0.03
血液	0.05 \pm 0.02	

平均値 \pm 標準誤差 (μM). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 非点眼側(対応のある t -検定). [#] $p < 0.05$ vs. 非点眼側後眼部網・脈絡膜(対応のある t -検定). ^{††} $p < 0.01$ vs. 点眼側視神経周囲組織(対応のある t -検定). $n = 5$.

以上よりニブラジロールは緑内障治療にとって必須である眼圧下降作用に加え、網膜神経節細胞に対する神経保護作用のみならず視神経乳頭部血流増加作用を有し、さらに点眼により後眼部まで薬理学的に期待できる濃度で移行することが明らかとなった。

引用文献

1. Kitazawa Y: Open-angle glaucoma in Japan. J Glaucoma 2001;10:5-6.
2. Quigley HA: Open-angle glaucoma. New Eng J Med 1993;328:1097-1106.
3. Quigley HA, Addicks EM, Green WR, Maunemee AE: Optic nerve damage in human glaucoma. II. The site of injury and susceptibility to damage. Am J Ophthalmol 1981;99:635-649.
4. Quigley HA, Addicks EM: Chronic experimental glaucoma in primates II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axon transport. Invest Ophthalmol Vis Sci 1980;19:137-152.
5. Radius R, Anderson D: Rapid axonal transport in primate optic nerve. Disruption of pressure-induced interruption. Arch Ophthalmol 1981;99:650-654.
6. Vorwerk CK, Gorla MSR, Dreyer EB: An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy. Surv Ophthalmol 1999;43:S142-S150.
7. Dreyer EB, Zurakowski D, Schmer RA, Podos SM, Lipton SA: Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. Arch Ophthalmol 1996;114:299-305.

8. Dreyer EB: A proposed role for excitotoxicity in glaucoma. *J Glaucoma* 1998;7:62-67.
9. Flammer J: The vascular concept of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1994;38:3-6.
10. Yamamoto T, Kitazawa Y: Vascular pathogenesis of normal-tension glaucoma: a possible pathogenetic factor, other than intraocular pressure, of glaucomatous optic neuropathy. *Prog Ret Eye Res* 1998;17:127-143.
11. Clark AF, Pang IH: Advances in glaucoma therapeutics. *Expert Opin Emerging Drugs* 2002;7:141-163.
12. Uchida Y, Nakamura M, Shimizu S, Shirasawa Y, Fujii M: Vasoactive and beta-adrenoceptor blocking properties of 2,4-dihydro-8-(2-hydroxy-3-isopropylamino)proprxy-3-nitroxy-2H-1-benzopyran (K-351), a new antihypertensive agent. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1983;262:132-149.
13. Ohira T, Wada Y, Fujii M: Effects of nipradilol (K-351) on alpha-adrenoceptor mediated responses in various isolated tissues. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985;278:61-71.

学位論文審査結果の要旨

緑内障は、わが国における中途失明原因2位の眼疾患である。緑内障の治療には眼圧降下の目的で、眼房水産生阻害作用を持つアドレナリン β 受容体遮断薬が第1選択薬として使用される。本研究は新規緑内障治療薬ニブラジロールの緑内障治療機序ならびに眼内薬物分布を検討した結果を記述したものであり、その研究成果は以下のとおりである。

- (1) ニブラジロールは、点眼投与で家兎眼のアドレナリン β 受容体を遮断し、また α_1 受容体も遮断すること、房水産生を阻害し房水の経シュレム管排出ならびに経ぶどう膜流出を促進することを示した。ニブラジロールは主にこれらの作用により眼圧を低下させることを明らかにした。
- (2) 眼硝子体内へのN-methyl D-aspartate (NMDA) 投与による網膜障害モデルを作成し、ニブラジロールがこのモデルで視神経保護作用を持つことを明らかにした。すなわち、ラット眼においてNMDAにより網膜神経節細胞数が減少し内膜状層厚が薄くなることを示し、ニブラジロール点眼がこうしたNMDAの障害作用を抑制することを示した。緑内障治療薬である β 遮断薬のチモロールや α_1 遮断薬のプロパゾリンには抑制作用は認められなかった。ニトロプルシドは緑内障治療薬ではないが抑制効果が認められた。ニブラジロールはニトロ基を有しており、神経保護作用にニブラジロールのニトロ供与作用が関与していることを示唆した。
- (3) 点眼投与されたニブラジロールが神経保護作用を発揮するにはニブラジロールが網膜に到達することが必要である。申請者は以下2つの実験結果でそれを示した。家兎眼でニブラジロール点眼は、硝子体内へ投与したエンドセリンにより誘発される網膜中心動脈収縮を抑制した。 ^{14}C ラベル化ニブラジロールを用いて点眼後の眼組織内ニブラジロール濃度を測定したところ、網・脈絡膜にニブラジロールが薬理作用を発揮する濃度で移行していた。
- (4) 健康成人においてニブラジロール点眼により視神経乳頭部血流量が増加することを示した。またサルにおいても点眼後、ニブラジロールが後眼部に分布することをオートラジオグラフィで示した。

以上、本研究はニブラジロールの緑内障治療の作用機序を明らかにするとともに、点眼投与されたニブラジロールが後眼部にまで移行することを明らかにした。後者の知見は、緑内障治療における薬物の作用部位として前眼部のみならず後眼部も期待できることを示唆するものであり、本論文は博士（薬学）論文に値すると認める。